RESOLUCIÓN OIV-OENO 419B-2012

MÉTODOS ESPECÍFICOS PARA EL ANÁLISIS DEL AZÚCAR DE UVA (MOSTO DE UVA CONCENTRADO RECTIFICADO)

LA ASAMBLEA GENERAL

Visto el articulo 2 párrafo 2 iv del Acuerdo del 3 de abril de 2001 por el que se crea la Organización Internacional de la Viña y del Vino,

CONSIDERANDO los trabajos de la Subcomisión "Métodos de Análisis" en la puesta al día del compendio de métodos específicos para el análisis del azúcar de uva,

CONSIDERANDO la resolución OENO 47/2000, ya existente sobre las especificaciones del azúcar de uva, los métodos relacionados y la necesidad de poner al día estos métodos específicos,

Dado que los métodos siguientes han sido reconocidos por autoridades a nivel internacional,

DECIDE crear un Anexo F titulado: "Métodos específicos para el análisis del azúcar de uva"

DECIDE introducir en el Anexo F del *Compendio de los métodos internacionales de análisis de los vinos y mostos* los métodos descritos en el anexo siguiente

DECIDE, por lo tanto, adaptar la Resolución Oeno 47/2000 incluida en el Codex Enológico Internacional.

Certificado conforme
Izmir, 22 de junio de 2012
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Federico CASTELLUCCI

© OIV 2012

ANEXO A: CATIONES TOTALES

Tipo I

1. *FUNDAMENTOS*

Se trata la muestra con un intercambiador de cationes de elevada acidez. Se intercambian los cationes por H^+. Se expresan mediante la diferencia de acidez total del efluente y de la muestra.

2. *EQUIPOS*

2.1. Columna de vidrio de aproximadamente 300 mm de longitud y de 10 a 11 mm de diámetro interno, provista de grifo

2.2. pH-metro graduado, como mínimo, en décimas de unidades pH

2.3. Electrodos:

– electrodo de vidrio, que debe conservarse en agua destilada,

– electrodo de referencia de calomelanos-cloruro de potasio saturado, que debe conservarse en una solución saturada de cloruro de potasio,

– o electrodo combinado, que debe conservarse en agua destilada.

3. *REACTIVOS*

3.1. Intercambiador de cationes muy ácido, en forma H^+. Antes de su uso, hinchar la resina mediante inmersión en agua durante una noche.

3.2. Solución 0,1 M de hidróxido de sodio

3.3. Papel indicador de pH

3.4. El agua utilizada debe ser agua purificada para laboratorio, de conductividad inferior a 2 µS cm-1 a 20°C, por ejemplo agua EN ISO 3696 tipo II.

4. *PROCEDIMIENTO*

El pH metro debe ser calibrado según el método OIV MA-AS313-15.

4.1. Preparación de la muestra

Utilizar la solución obtenida diluyendo el mosto concentrado rectificado al 40 % (m/v): introducir 200 g de mosto concentrado rectificado pesado exactamente, enrasar con 500 ml de agua y homogeneizar.

4.2. Acidez total del mosto concentrado rectificado

Certificado conforme
Izmir, 22 de junio de 2012
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Federico CASTELLUCCI

© OIV 2012

Valorar la acidez del mosto concentrado usando 100 ml de la muestra que se preparó según el punto 4.1 con una solución 0,1 M de hidróxido de sodio hasta que el pH sea igual a 7 a 20º.
La adición de la solución alcalina debe hacerse lentamente y la solución se debe agitar en todo momento. Sea n1 ml el volumen de solución 0,1M de hidróxido de sodio Empleado.

4.3. Preparación de la columna intercambiadora de iones

Introducir en la columna 10 ml, aproximadamente, del intercambiador de iones en forma H^+ previamente hinchado; lavar la columna con agua destilada hasta eliminar la acidez, que se controla con el papel indicador.

4.4. Intercambio de iones

Hacer pasar por la columna 100 ml de la solución de mosto concentrado rectificado, preparada del modo indicado en el punto 4.1, a razón de una gota por segundo. Recoger el efluente en un vaso de precipitados. Lavar la columna con 50 ml de agua destilada. Valorar la acidez del efluente (incluida el agua de lavado) con la solución 0,1 M de hidróxido de sodio hasta que se alcance un pH 7 a 20 °C. La adición de la solución alcalina debe hacerse lentamente; la solución se debe agitar todo el tiempo. Sea n2 ml el volumen de solución 0,1 M de hidróxido de sodio empleado.

5. *EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS*

Los cationes totales se expresan en miliequivalentes por kilogramo de azúcares totales con 1 decimal.

5.1. Cálculos

– Acidez total del mosto concentrado rectificado en miliequivalentes por kilogramo:

$a = 2{,}5\ n1$

– Acidez del efluente expresada en miliequivalentes por kilogramo de mosto concentrado rectificado:

$E = 2{,}5\ n2.$

– Cationes totales en miliequivalentes por kilogramo de azúcares totales:

$((n2 - n1) / (P)) * 250$

P = contenido % (m/m) en azúcares totales.

5.2. Repetibilidad (r)

r = 0.3

Certificado conforme
Izmir, 22 de junio de 2012
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Federico CASTELLUCCI

© OIV 2012

ANEXO D: METALES PESADOS

Tipo IV

D.1 DETERMINACIÓN DEL NIVEL DE PLOMO POR ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA ELECTROTÉRMICA

Se describen de forma detallada las etapas para la preparación de las muestras de azúcar de uva (mostos concentrados y mostos concentrados rectificados) para la determinación cuantitativa de plomo.
Tanto los instrumentos como las herramientas informáticas que se utilizan en los laboratorios de ensayo van cambiando y evolucionando.
Por ello, se señalan criterios de carácter general para la calibración y medida.

1. Advertencia

PRECAUCIONES DE SEGURIDAD — Al manipular ácidos, los operarios deben protegerse las manos y los ojos. Los ácidos deben manipularse bajo una campana apropiada.

2. Ámbito de aplicación

El método aquí descrito presenta un procedimiento de espectrometría de absorción atómica electrotérmica (ETAAS) para determinar la cantidad de plomo que contienen los mostos concentrados rectificados entre 10 µg/kg y 200 µg/kg.

3. Referencias normativas

ISO 3696: Agua para uso en análisis de laboratorio. Especificaciones y método de ensayo.

4. Fundamentos

Para la espectrometría de absorción atómica electrotérmica (ETAAS), se introduce una pequeña muestra en un tubo de grafito que se calienta a temperaturas que pueden llegar a superar los 2800 ºC. A medida que la temperatura aumenta, van teniendo lugar los procesos de secado, de descomposición térmica de la matriz y de disociación térmica en átomos libres. En la mayoría de elementos, la altura del pico suele ser proporcional a la concentración del elemento en la solución, aunque en muchos casos es preferible trabajar con el área de los picos.

5. Reactivos y soluciones

A menos que se indique lo contrario, solo se deben utilizar reactivos de calidad analítica reconocida que no contengan plomo.

Certificado conforme
Izmir, 22 de junio de 2012
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Federico CASTELLUCCI

© OIV 2012

5.1 Agua desmineralizada ultrapura con una resistividad superior a los 18 MΩ, conforme a la norma ISO 3696.

5.2 Ácido nítrico en una concentración superior al 60 % (de calidad Normapur).

5.3 Dihidrógeno fosfato de amonio $NH_4H_2PO_4$

5.4 Modificador de matriz: $NH_4H_2PO_4$ al 6 %

Introducir 3 g de $NH_4H_2PO_4$ en un matraz aforado de 50 ml, disolverlo, y completar el volumen con agua desmineralizada.

5.5 Nitrato de magnesio $Mg(NO_3)_2$ con 6 moléculas de agua

5.6 Solución de nitrato de magnesio al 0,5 % (esta solución se debe conservar en el frigorífico)

Introducir 0,5 g de nitrato de magnesio en un matraz aforado de 100 ml, disolverlo, y completar el volumen con agua desmineralizada. Esta solución se debe conservar en el frigorífico durante un máximo de 15-20 días.

5.7 Solución(es) certificada(s) monoelemental(es) de plomo (1.000 mg/l)

5.8 Solución de plomo de 10 mg/l

Introducir 1 ml de solución madre (5.7) y 10 ml de ácido nítrico (5.2) en un matraz de 100 ml.

Enrasar con agua ultrapura (5.1).

5.9 Solución de plomo de 100 µg/l :

Introducir 1 ml de la solución de plomo (5.8) en un matraz de 100 ml. Añadir 10 ml de ácido nítrico (5.2) y enrasar con agua ultrapura (5.1).

5.10 Tritón X-100 (1 % v/v)

5.11 Blanco analítico: ácido nítrico al 10 %

PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRADO

La cantidad de soluciones de calibrado depende de la precisión requerida. Se necesitan al menos cinco niveles de concentración. La exactitud y precisión de los resultados se pueden verificar analizando una muestra de control.

Conviene señalar que la linealidad de la curva de calibrado suele ser muchas veces limitada.

Corregir los valores de absorbancia de las soluciones de calibrado restando el valor de absorbancia del blanco de calibrado. Para trazar una curva de calibrado o calcular la función de calibración, utilizar los valores obtenidos y las concentraciones de analito de las soluciones de calibrado.

Dependiendo del tipo de aparato, se puede trabajar con un muestreador automático que permita inyectar directamente volúmenes predeterminados a partir de la solución de 100 µg/l, de manera que se disponga de un rango de calibrado entre 0 y 100 µg/l (ej.: 0, 10, 25, 50, 100 µg/l). También es posible preparar las soluciones de calibración por separado.

Certificado conforme
Izmir, 22 de junio de 2012
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Federico CASTELLUCCI

© OIV 2012

<u>Nota 1:</u> Para determinar una cantidad de plomo superior a los 100 µg/l, se puede utilizar un volumen de muestra más reducido.

6. Aparatos y equipos

6.1 **Espectrómetro de absorción atómica** equipado con un atomizador electrotérmico, con una lámpara de cátodo hueco de plomo, que funcione con la corriente recomendada para la lámpara por el fabricante del aparato, con un dispositivo de corrección automática del ruido de fondo y con un sistema informático de lectura o registrador gráfico de gran velocidad. Con el espectrómetro de absorción atómica electrotérmico ha de utilizarse un corrector del ruido de fondo. La mínima especificación técnica aceptable se basa en el deuterio. Cuando el ruido de fondo es considerable, es preferible utilizar un corrector Zeeman. Para aumentar la conexión entre la señal del analito y la señal del ruido de fondo, se recomienda utilizar un tubo de grafito de plataforma pirolítica.

<u>Nota 2:</u> En el caso del plomo, se puede utilizar una longitud de onda de 217,0 nm. La sensibilidad será aproximadamente dos veces mayor que la que se pueda obtener en una longitud de 283,3 nm. Sin embargo, al ser el ruido más elevado y el riesgo de interferencias mayor, habrá que trabajar con un sistema de corrección del ruido de fondo de tipo Zeeman.

6.2 Balanza de precisión de aproximadamente 0,1 mg

6.3 Pipetas graduadas de clase A de 0,5 ml, 1 ml, 5 ml

6.4 Matraces aforados de 50 ml y 100 ml de clase A

<u>Nota 3:</u> Todo el material que ha estado en contacto con la muestra debe permanecer sumergido durante un mínimo de 12 horas en una solución de ácido nítrico (5.2) con una concentración del 10 %, y a continuación debe aclararse varias veces con agua desmineralizada (5.1).

7. Muestreo

Preparación de la muestra para el ensayo.

En un matraz de 50 ml (6.4), introducir 10 g de muestra con una exactitud aproximadamente de 0,1 mg ; 5 ml de ácido nítrico (5.2), 0,5 ml de tritón X-100 (1 % v/v) (5.10). Completar los 50 ml con agua desmineralizada (5.1) y homogeneizar.

8. Procedimiento

Regular los parámetros instrumentales y alinear el atomizador electrotérmico conforme a las instrucciones del fabricante, para aprovechar plenamente el sistema de corrección del ruido de fondo. Regular el muestreador de la misma manera. Determinar los parámetros óptimos del atomizador electrotérmico para el tipo de atomizador y el volumen de muestra concretos, tal y

© OIV 2012

como recomienda el fabricante del aparato, para cubrir la extensión de medida óptima. Poner la línea de base del aparato en cero. Verificar la estabilidad del cero en el sistema de atomización, ejecutando el programa de temperatura predefinido para la solución blanco del atomizador de grafito. Se pueden utilizar los siguientes parámetros del horno:

fase	temperatura (ºC)	duración (s)	subida (rampa) /ºC/s)	tipo de gas	caudal de gas (l/mn)	lectura
1	130	15	10	argón	0,2	no
2	350	5	25	argón	0,2	no
3	500	5	50	argón	0,2	no
4	750	10	100	argón	0,2	no
5	1900	3	0	argón	Parada	sí
6	2500	3	0	argón	0,2	no
7	100	10	0	argón	0,2	no

Con la ayuda de un muestreador automático, inyectar un volumen fijo de solución. Añadir un volumen fijo de modificador y atomizar el blanco analítico (5.11), las soluciones de calibrado y las soluciones de la musetra para ensayo diluidas en el orden de respuesta creciente del aparato. Si la altura de pico (o el área de pico) de la muestra sobrepasa el valor de la solución de calibrado y presenta una concentración más elevada, deberá utilizarse un volumen de muestra más reducido.

Calibración externa

Se presenta, a modo de ejemplo, el siguiente programa para el muestreador (volumen en µl), con el objeto de determinar la cantidad de plomo mediante calibración externa.

	blanco	muestra	patrón 1 10 µg/l	patrón 2 25 µg/l	patrón 3 50 µg/l	patrón 4 100 µg/l
blanco (HNO3 10 %)	5,0					
diluyente (HNO_3 10 %)			4,5	3,7	2,5	0
muestra		5,0				
solución madre (Pb 100 µg/l)			0,5	1,3	2,5	5,0
NH4H2PO4 6 %	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Mg(NO3)2 0,5 %	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
volumen total	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0

Atomizar cada solución al menos dos veces, y si la reproducibilidad resulta ser aceptable

Certificado conforme
Izmir, 22 de junio de 2012
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Federico CASTELLUCCI

© OIV 2012

conforme al sistema de control de la calidad que se utiliza en el laboratorio, calcular la media de lecturas. Si fuera necesario, volver a poner la línea de base en cero.

Método de las adiciones

También es posible trabajar con adición de patrones para reducir el efecto de las interferencias no espectrales entre los patrones y las muestras, siempre que la curva de calibrado sea lineal en el rango de absorbancia utilizada.

Verter volúmenes idénticos de la muestra para ensayo en tres recipientes (por ejemplo, cubetas de un muestreador automático). Añadir una poca cantidad de solución de patrón en dos de los recipientes, de tal manera que en las muestras se obtenga una concentración superior de aproximadamente un 100 % y 200 % respectivamente a la concentración prevista en la muestra de origen. Añadir la misma cantidad de agua en el tercer recipiente. Mezclar las soluciones cuidadosamente. Medir la absorbancia integrada de cada solución y trazar una curva, indicando en la abscisa la concentración añadida y en la ordenada la absorbancia medida. Determinar la concentración de analito de la solución de blanco de reactivos o de la solución blanco de ensayo de la misma manera.

Se presenta, a modo de ejemplo, el siguiente programa para el muestreador (volumen en µl), con el objeto de determinar la cantidad de plomo mediante la calibración externa.

	Blanco	muestra	añadido dosificado 1 25 µg/l	añadido dosificado 2 50 µg/l
blanco (HNO_3 10 %)	5,0			
diluyente (HNO3 10 %)	2,5	2,5	1,2	0
muestra		5,0	5,0	5,0
solución madre (Pb 100 µg/l)			1,3	2,5
$NH_4H_2PO_4$ 6 %	1,0	1,0	1,0	1,0
$Mg(NO_3)_2$ 0,5 %	2,0	2,0	2,0	2,0
volumen total	10,5	10,5	10,5	10,5

9. Cálculo

El programa del aparato realiza el gráfico de calibración (absorbancia en función de la concentración de plomo en µg/l) y calcula la concentración de plomo de las muestras. Si es necesario, tener en cuenta una eventual dilución.

Certificado conforme
Izmir, 22 de junio de 2012
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Federico CASTELLUCCI

© OIV 2012

10. Parámetros de precisión

Para una concentración de plomo inferior 150 µg/kg:
r (Repetibilidad) = 15 µg/kg
R (Reproducibilidad) = 25 µg/kg

11. Bibliografía

13.1 Laboratorio SCL33. *Détermination du plomb dans le vin par spectrométrie d'absorption atomique (four-graphite)*. Manual de instrucciones, 2010.

13.2 Laboratorio SCL33. *Détermination du plomb dans les aliments solides par spectrométrie d'absorption atomique (four-graphite).* Manual de instrucciones, 2010.

13.3 Rodríguez García, J.C. *Desarrollo de metodologías para la determinación de metales en miel mediante ETAAS y estudio quimiométrico de su empleo como bioindicador.* Universidad de Santiago de Compostela, Facultad de Ciencias, Campus de Lugo, 2006.

ANEXO D.2: METALES PESADOS

Determinación del contenido en plomo por espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS).

Tipo IV

El análisis de Pb en muestras de mosto concentrado rectificado se puede llevar a cabo aplicando el **método OIV/OENO344/2010** (Análisis multielemental mediante ICP-MS), con la siguiente modificación añadida al final del punto 5 (preparación de las muestras):

5. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

El presente método también se puede aplicar al análisis de Pb en muestras de mosto rectificado. Para ello se debe realizar una mineralización previa de la muestra. Se recomienda una digestión en microondas con vaso cerrado. El siguiente procedimiento se muestra a título de ejemplo:

Introducir 1 gramo de mosto, 2 ml de ácido nítrico (3.4) y 8 ml de agua (3.1) en un vaso de microondas, aplicando el siguiente programa de microondas:

Etapa	Tiempo rampa	ºC	Tiempo mantenimiento
1	20 min	200	20 min

Una vez digeridas las muestras, transferir a un tubo de plástico de 50 ml (4.6), diluir con agua (3.1) hasta 30 g y homogeneizar.

Certificado conforme
Izmir, 22 de junio de 2012
El Director General de la OIV
Secretario de la Asamblea general

Federico CASTELLUCCI

© OIV 2012